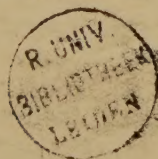


Über eine neue Wertbestimmung von

Colchicin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der philosophischen Fakultät der
Philipps-Universität zu Marburg/Lahn

vorgelegt von
Hermann-Josef Bolder
aus Köln/Rh.



M A R B U R G 1 9 5 3 (D 4)

Als Dissertation angenommen am: 22. 11. 1953

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Böhme

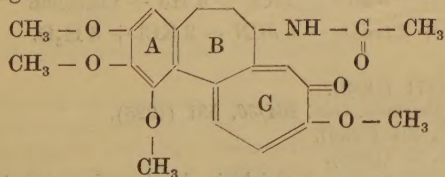
Tag der mündlichen Prüfung: 16. 12. 1953

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Die Dissertation erscheint auch in der Zeitschrift „Archiv der Pharmazie“,
Band 287, Heft 3 (1954), Seite 147—160.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

Die Konstitution des Colchicins ist in den letzten Jahren durch *I. W. Cook* und *M. J. S. Dewar* aufgeklärt worden, die auf Untersuchungen von vor allem *S. Zeisel* und *A. Windaus* aufbauen konnten¹⁾; charakteristisch ist vor allem der 7gliedrige Tropolon-Ring C mit einer Carbonyl- und Methoxy-Gruppe, sowie 3 konjugierten Doppelbindungen.



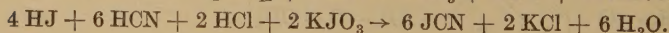
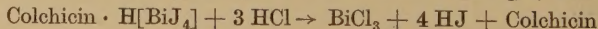
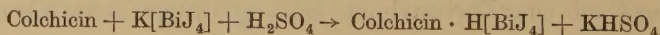
Für das Verhalten des Colchicins ist aber in erster Linie die säureamidartige Bindung seines Stickstoffatoms verantwortlich, dessen basische Eigenschaften so

¹⁾ Vgl. *G. Huber*, *Angew. Chem.* 63, 501 (1951).

schwach ausgebildet sind, daß z. B. eine acidimetrische Bestimmung mit den gebräuchlichen Indikatoren nicht möglich ist. Die Wertbestimmung von Semen Colchici und seinen galenischen Zubereitungen wird in den Arzneibüchern daher ausschließlich gravimetrisch durchgeführt.

Die Anwendbarkeit der *Gordinschen Methode*²⁾ der Alkaloidbestimmung auf Colchicin wurde von *J. Gadamer* und *E. Neuhoff*³⁾, *R. Dietzel* und *W. Paul*⁴⁾ sowie von *H. Mühlemann* und *R. Tobler*⁵⁾ untersucht. Man fällt hierbei Colchicin in Gegenwart einer bestimmten Menge Salzsäure mit Jodjodkalium als Polyjodid, trennt durch Filtration und titriert im Filtrat die überschüssige Säure acidimetrisch gegen Phenolphthalein. *H. Mühlemann* und *R. Tobler*⁵⁾ zeigten, daß dieser Methode beachtliche Fehler anhaften, die besonders bei kleinen Einwaagen Bedeutung bekommen. Einerseits darf die Acidität nicht zu schwach sein, da sich das Polyjodid dann nur schlecht filtrierbar abscheidet, andererseits wird bei Verwendung von n/10-Salzsäure die Fehlermöglichkeit dadurch sehr groß, daß der Umrechnungsfaktor relativ ungünstig ist (1 ml n/10-Säure = 39,92 mg Colchicin).

Das Problem der Bestimmung von Colchicin in Droge und galenischen Zubereitungen setzt also zunächst eine brauchbare Methode zur quantitativen Bestimmung des Alkaloids voraus. Wir haben uns zunächst bemüht, mit Hilfe von Alkaloidfällungsmitteln wie Reineckesäure, Tetraphenylbor-natrium u. a. Colchicin⁶⁾ in eine für gravimetrische Bestimmungen geeignete Wägeform zu überführen, hatten aber keinen Erfolg. Vergeblich waren auch Versuche, Colchicin⁶⁾ in eines seiner schwer löslichen Bromsubstitutionsprodukte umzuwandeln, und dieses entweder selbst zur Wägung zu bringen oder das zur Anwendung gekommene, überschüssige Brom zurückzutitrieren. Schließlich hatten wir Erfolg bei Anwendung einer kürzlich von *W. Poethke* und *H. Trabert*⁷⁾ zur Bestimmung von 8-Oxychinolin ausgearbeiteten Methode, bei der die Base mit *Dragendorffs* Reagenz (Kalium-jodo-wismutat-Lösung) in saurer Lösung gefällt wird; der abfiltrierte Niederschlag wird anschließend mit verdünnter Säure zersetzt und sein Jodgehalt durch Titration mit Kaliumjodat-Lösung nach dem Jodecyanid-Verfahren von *R. Lang*⁸⁾ ermittelt. Vorversuche zeigten, daß die Fällung von Colchicin mit Kalium-jodo-wismutat-Lösung sehr empfindlich ist; noch 0,6 mg Colchicin in 30 ml Wasser geben z. B. eine deutliche Fällung auf Zusatz von 10 ml Reagenzlösung. Quantitative Versuche, bei denen wir uns zunächst weitgehend an das von *W. Poethke* und *H. Trabert*⁷⁾ für 8-Oxychinolin angegebene Verfahren hielten, zeigten grundsätzlich die Brauchbarkeit der Methode zur Bestimmung von Colchicin, die folgendermaßen zu formulieren ist:



²⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 32, 2871 (1899).

³⁾ Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 264/36, 531 (1926).

⁴⁾ Süddtsch. Apotheker-Ztg. 76, 474 (1936).

⁵⁾ Pharmac. Acta Helvetiae 21, 34 (1946).

⁶⁾ Alle Versuche wurden mit analysenreinen Colchicin durchgeführt, für das unter Verwendung der Erfahrungen früherer Bearbeiter, insbesondere von *J. N. Ashley* und *J. O. Harris*, Journ. chem. soc. London, 1944, 677 eine Herstellungsmethode ausgearbeitet wurde.

⁷⁾ Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 91, 284 (1952).

⁸⁾ Z. anorg. allg. Chem. 122, 332 (1922).

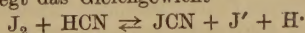
Es werden somit für 1 Mol Colchicin 2 Mole Kaliumjodat verbraucht. Man arbeitet mit m/120-Jodat-Lösung, von der 1 ml somit 1/240 mmol Colchicin entspricht (1,664 mg). Dieser hohe Umrechnungsfaktor ist für die Genauigkeit der Bestimmung von besonderem Vorteil und erlaubt die Anwendung sehr kleiner Einwaagen. Um quantitative Bestimmungen des Colchicins mit Hilfe dieses Verfahrens durchführen zu können, mußten zunächst in einer Reihe von Versuchen Fehlermöglichkeiten ausgeschaltet werden und Fällungsbedingungen, Art des Auswaschens, Zusammensetzung der Waschflüssigkeit sowie die Titrationsbedingungen eindeutig festgelegt werden.

Für die in Tabelle 1 wiedergegebenen Werte ist die Versuchsanordnung so, daß Lösungen von 5 bis 50 mg Colchicin in 30 ml Wasser nach dem Ansäuern mit einigen Tropfen verd. Schwefelsäure unter ständigem Umschütteln tropfenweise mit 10 ml Kaliumjodowismutat-Lösung versetzt werden. Nach einstündigem Stehenlassen wird durch eine Jenaer Glasfilternutsche abgesaugt und der Niederschlag wiederholt mit geringen Mengen eisgekühlter n/100-Schwefelsäure gewaschen, wodurch praktisch keine Verluste eintreten. Sodann wird mit 10%iger Salzsäure auf der Nutsche zersetzt, abgesaugt und mit Wasser nachgewaschen. Man fügt zu der in der Saugflasche befindlichen Lösung Kaliumcyanid-Stärke-Lösung und titriert mit m/120-Kaliumjodat-Lösung. Beim Zusatz des ersten Tropfens färbt sich die gelbe Lösung sofort grün, bei weiterem Zusatz schwarz-blau. Man titriert, bis die Lösung sich wieder aufhellt. Zum Schluß läßt man nur sehr langsam zulaufen, bis die Lösung rein gelbe Farbe annimmt⁹⁾. Der Umschlag ist gut zu erkennen. Falls man zu schnell titriert hat, nimmt die Lösung häufig wieder eine dunklere Farbe an. Man wartet daher nach Schluß der Titration etwa eine Minute; für den Fall, daß die Farbe sich ändert, genügen dann meist zwei bis drei Tropfen Kaliumjodat-Lösung bis zum bleibenden Farbumschlag¹⁰⁾.

Tabelle 1
Jodometrische Titration von Colchicin

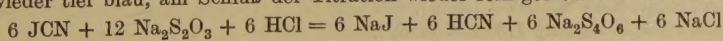
Einwaage mg Colchicin	Verbraucht ml m/120-KJO ₃	Gef. mg Colchicin
5,0	3,05	5,1
10,0	6,10	10,1
10,2	6,25	10,4
15,0	9,40	15,6
20,4	12,5	20,7
20,2	12,6	20,8
25,6	15,5	25,8
30,4	18,0	30,0
35,0	20,4	33,8
40,1	23,6	39,3
45,2	26,6	44,3

⁹⁾ Während der Titration liegt das Gleichgewicht



soweit nach links, daß die Jodstärke-Reaktion stets positiv ist. Mit Ende der Titration nähern sich die Konzentrationen von Jod und Jodion gleichzeitig dem Wert Null, wodurch die Jodstärke-Reaktion negativ wird. Vgl. *Medicus-Poethke*, Maßanalyse, Dresden und Leipzig 1947.

¹⁰⁾ Zur Kontrolle kann man die austitrierte Lösung anschließend einer zweiten Titration mit n/20-Natriumthiosulfatlösung unterwerfen. Auf Zusatz der ersten Tropfen färbt sich die Lösung wieder tief blau, am Schluß der Titration wieder rein gelb. Nach der Formel



entspricht 1 ml n/20-Thiosulfatlösung ebenfalls 1/240 mmol Colchicin (1,664 mg).

Tabelle 1 zeigt, daß man mit Hilfe dieser Methode, für die später eine genaue Arbeitsvorschrift gegeben wird, ausgehend von analysenreinem Colchicin⁶⁾ recht befriedigende Werte erhält. Zu bemerken ist, daß der ausgefallene Niederschlag von Colchicin-jodo-wismutat auch als solcher zur Wägung gebracht werden kann, wodurch eine gravimetrische Kontrolle möglich ist. Trocknet man bei Zimmertemperatur¹¹⁾ über Phosphorpentoxyd im Vakuum, so erhält man Analysenwerte, die gut auf ein Monohydrat stimmen. Für bei verschiedenen Fällungen erhaltene Niederschläge wurden z. B. folgende Werte gefunden:

Niederschlag I	Gef.: C 22,89	H 2,42	N 1,26	J 43,75
Niederschlag II	Gef.: » 23,23	» 2,36	» 1,53	» 44,00
Niederschlag III	Gef.: » 22,39	» 2,44	» 1,28	» 44,80
$C_{22}H_{26}O_6NBiJ_4$ (1117,1)	Ber.: » 23,63	» 2,33	» 1,26	» 45,45
$C_{22}H_{26}O_6NBiJ_4 \cdot 1 H_2O$ (1135,1)	Ber.: » 23,26	» 2,46	» 1,23	» 44,70

Nachdem nunmehr eine brauchbare maßanalytische Methode zur Bestimmung von reinem Colchicin zur Verfügung stand, haben wir uns dem Problem einer Wertbestimmung von Colchicin-Handelspräparaten zugewandt. Befunde von *F. Santavy* und *T. Reichstein*¹²⁾, sowie von *R. M. Horowitz* und *G. E. Ulliyot*¹³⁾ legen die Vermutung nahe, daß Pharmacopoe-Colchicine häufig durch Nebenalkaloide verunreinigt sind, deren Abtrennung uns insofern wünschenswert schien, als sie möglicherweise mit *Dragendorffs* Reagenz ebenfalls Niederschläge geben. Da sich bei der präparativen Reindarstellung des Colchicins die chromatographische Reinigung an Aluminiumoxyd gut bewährt hatte, haben wir zunächst das Verhalten von Colchicin an Aluminiumoxyd-Säulen näher untersucht. Wir verwendeten hierbei ausschließlich die nach Angaben von *G. Hesse*¹⁴⁾ hergestellten Aluminiumoxyde der Firma *M. Woelm*, Eschwege, und zwar das „saure“, „alkalifreie“ und „basische“ Präparat, die bei der Anwendung eine Reihe von Vorteilen hinsichtlich Konstanz der Zusammensetzung und Aktivität, Filtriergeschwindigkeit usw. haben, wodurch die Reproduzierbarkeit chromatographischer Verfahren sehr erleichtert wird.

Die Versuchsanordnung war derart, daß 4,0 g Aluminiumoxyd in ein unten mit Watte verschlossenes Glasrohr von 10 mm Durchmesser gefüllt wurden, sodann 5 ml Lösungsmittel aufgegossen und, wenn diese eingezogen waren, eine gewogene Menge (30 bis 40 mg) Colchicin⁶⁾ in 5 ml Lösungsmittel. Es wurde mit dem jeweils verwendeten Lösungsmittel nachgewaschen und die Durchlaufgeschwindigkeit im allgemeinen auf 1 Tropfen/Sekunde reguliert; dies war bei wäßrigen Lösungen z. B. nur durch schwaches Saugen zu erreichen. Falls Adsorption eintritt, so erkennt man dies an der Ausbildung zitronengelb gefärbter Zonen.

Verwendet man als Lösungsmittel für Colchicin Wasser, so ist praktisch keine Adsorption an den untersuchten Aluminiumoxyden zu beobachten und das Alkaloid wird quantitativ bereits in den ersten 15 ml Filtrat gefunden. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei methanolischen Lösungen; aus dem Auftreten einer schwachen Gelbfärbung der Säule, die durch Auswaschen mit Methanol zum Verschwinden kommt, ist aber auf eine, wenn auch schwache Adsorption zu schließen, die besonders deutlich beim „sauen“ Oxyd ist. Andere Verhältnisse findet man aber bei Anwendung hydroxylfreier Medien, wie Chloro-

¹¹⁾ Trocknen bei höherer Temperatur bedingt Zersetzung.

¹²⁾ *Helv. chim. Acta* 33, 1606 (1950).

¹³⁾ *Science* [Washington] 115, 216 (1952).

¹⁴⁾ *G. Hesse, J. Daniel und G. Wohleben, Angew. Chem.* 64, 103 (1952).

form, in dem sich das Alkaloid leicht löst. Um eindeutig definierte Voraussetzungen zu schaffen — Chloroform enthält meist 1% Äthanol zur Stabilisierung, das, wie noch gezeigt wird, einen wesentlichen Einfluß auf das Adsorptionsgeschehen ausüben kann —, haben wir eine Reinigung des Handelspräparates durch Ausschütteln mit Wasser, Trocknen über Calciumchlorid und Destillation vorgeschaltet. Colchicin wird aus Lösungen in so gereinigtem Chloroform an den drei *Woelmschen* Aluminiumoxyden stark adsorbiert, so daß die ganze Säule bald intensiv gelb gefärbt ist, am stärksten beim „sauen“, am schwächsten beim „alkalifreien“ Präparat. Durch Nachwaschen mit reinem Lösungsmittel gelingt die Elution des Alkaloids von der Säule nicht. Ein Zusatz von geringen Mengen Methanol zum Chloroform ändert diese Verhältnisse aber grundlegend; es genügten z. B. 20 ml eines Gemisches aus 90 Vol. T. Chloroform und 10 Vol. T. Methanol, um eine schnelle und praktisch vollständige Elution des Alkaloids von den Aluminiumoxyd-Säulen zu erreichen¹⁵⁾.

In weiteren Versuchen wurde die Aktivität der verwendeten Aluminiumoxyde abgestuft. Die *Woelmschen* Präparate kommen mit Aktivitätsstufe I in den Handel und lassen sich durch Zusätze von Wasser in solche geringerer Aktivität verwandeln, wobei die Stufenskala nach *H. Brockmann* und *H. Schodder*¹⁶⁾ zugrunde gelegt ist. Beim Arbeiten mit wäßrigen oder methanolischen Lösungen spielt die Möglichkeit, die Aktivität abzuschwächen, kaum eine Rolle, da die Vorbehandlung mit dem hydroxylhaltigen Lösungsmittel bereits eine gewisse Festlegung bedeutet. Sinnvoll ist eine Abwandlung der Aktivität der zur Verwendung kommenden Aluminiumoxyde jedoch bei Chloroform-Lösungen des Alkaloids. Diesbezügliche Versuche lehrten aber, daß eine grundsätzliche Änderung hierdurch nicht zu erreichen ist; auch bei Aluminiumoxyden der Aktivitätsstufe IV ließ sich das Alkaloid vollständig nur mit Chloroform-Methanol-Gemisch von der Säule eluieren.

Wurden bei allen bisherigen Versuchen zunächst die Säulen mit reinem Chloroform angefeuchtet und eine Lösung des Colchicins in reinem Chloroform aufgegeben, so wurde anschließend das Alkaloid in Chloroform-Methanol-Gemisch (98 + 2 Vol. T.) gelöst und dasselbe Gemisch auch zum Anfeuchten der Säule verwandt. „Alkalifreies“ Aluminiumoxyd zeigte unter diesen Bedingungen praktisch keine Adsorption. Das Alkaloid, das sich in typischer Weise bald im unteren Drittel der Säule durch einen intensiv gelben Ring zu erkennen gab, ließ sich quantitativ bereits mit 7 ml Chloroform-Methanol eluieren. Am „basischen“ Aluminiumoxyd ist die Adsorption stärker; auch hier genügen aber 20 ml Lösungsmittelgemisch zur quantitativen Elution. Am stärksten ist die Fixierung auf dem „sauen“ Oxyd, von dem sich auch mit 50 ml Chloroform-Methanol die Base nicht quantitativ entfernen ließ; die Säule behält in diesem Falle auch nach dem Auswaschen einen gelben Schimmer von festgehaltenem, vielleicht verändertem Colchicin.

Am günstigsten ist nach diesen Versuchen somit die Verwendung des „alkalifreien“ Aluminiumoxyds. Dieser Befund wurde durch Untersuchungen von Handels-Colchicinen gestützt, die zeigten, daß Verunreinigungen von allen drei Oxyden zunächst adsorbiert werden, daß sie aber im Falle des „basischen“ und „sauen“ Oxyds zum Teil wieder eluiert werden, da hier relativ große Mengen Chloroform-Methanol-Gemisch zur Elution des Colchicins erforderlich sind. Beim „alkalifreien“ Oxyd erfolgt dieser Vorgang hingegen so schnell, daß ein Auswaschen der fixierten Verunreinigungen nicht zu beobachten ist.

Unsere Ergebnisse führen also zu dem Vorschlag, die quantitative Bestimmung von Colchicin in der Weise durchzuführen, daß man zunächst eine Lösung des

¹⁵⁾ Die Eignung derartiger Gemische zur Elution des Colchicins von Aluminiumoxydsäulen haben auch andere Autoren erkannt, z. B. *R. Fischer* und *H. Frank* *Scientia pharmac.* 16, 38 (1948); *R. M. Horowitz* und *G. E. Ulyot*, *Science* [Washington] 115, 216 (1952).

¹⁶⁾ *Ber. dtsch. chem. Ges.* 74, 73 (1941).

Alkaloids in Chloroform-Methanol-Gemisch zur Reinigung über eine Säule von Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ gibt, das Filtrat anschließend zur Trockne eindampft und den Rückstand gravimetrisch oder nach dem vorgeschlagenen jodometrischen Verfahren bestimmt. Wir haben auf diesem Wege vier Proben von verschiedenen Hersteller-Firmen untersucht, die alle als „Colchicin puriss. DAB 6“ bezeichnet waren. Die Substanzen enthielten 84%, 90%, 96% und 98% Reincolchicin. Das vom DAB VI vorgeschriebene chloroformhaltige Colchicin soll demgegenüber 87% reines Alkaloid enthalten. Die beobachteten Schwankungen waren einerseits durch die Anwesenheit von Verunreinigungen bedingt und andererseits durch zu geringen Gehalt an Kristall-Chloroform. In ein neues Arzneibuch sollte daher für Colchicin eine Gehaltsbestimmung aufgenommen werden, es sei denn, man würde ein Lösungsmittelfreies, reines Colchicin aufnehmen, dessen Reinheit leicht durch Schmelzpunkt nachzuprüfen ist¹⁷⁾.

Auf die gleiche Weise kann man schließlich auch den Gehalt von Colchicin in galenischen Zubereitungen ermitteln. Für die Wertbestimmung von Tabletten — eine solche findet sich z. B. in der U. S. P. XIII — empfiehlt es sich, die Masse nach dem Pulverisieren zunächst mit Methanol zu extrahieren, das Lösungsmittel abzudampfen und den Rückstand nach Lösen in Chloroform-Methanol-Gemisch über eine Säule von Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ zu geben, sowie anschließend jodometrisch zu titrieren. Bei einem Handelspräparat, das 1 mg Colchicin pro Tablette enthalten sollte, wurde nach diesem Verfahren 0,82 mg gefunden, während die gravimetrische Methode der U. S. P. XIII bei den gleichen Tabletten ein Gehalt von 0,95 mg ergab. Hervorzuheben ist bei dem neuen Verfahren, daß man von nur 10 bis 15 Tabletten zu 1 mg ausgeht, während nach U. S. P. XIII 50 Tabletten erforderlich sind.

Nachdem das Problem der quantitativen Bestimmung des Colchicins gelöst war, haben wir uns um eine Wertbestimmung von Samen Colchici bemüht, der auch heute noch eine gewisse Bedeutung zukommt. Diesbezügliche Vorschriften finden sich nämlich sowohl im DAB 6 (1926) und der Pharm. Helvet. V (1933), als auch in der Pharm. Internat. I (1951) und der British Pharm. 1953.

Im DAB 6 wird die gravimetrische Gehaltsbestimmung von *J. Gadamer* und *E. Neuhoff*¹⁸⁾ vorgeschrieben. Die Droge wird mit Wasser von 60° ausgezogen, der Extrakt mit Bleiessig versetzt und überschüssiges Blei mit Natriumphosphat gefällt, das Filtrat mit Kochsalz gesättigt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform läßt man abdunsten und wägt den bei 70 bis 80° getrockneten Rückstand von chloroformhaltigem Colchicin. Dieses Verfahren ist im Hinblick auf die Einfachheit der Ausführung vorteilhafter, es gibt dafür aber ungenauere Ergebnisse als die neueren Methoden. Einerseits enthält das zur Wägung kommende Colchicin relativ viel Verunreinigungen, andererseits ist chloroformhaltiges Colchicin im Hinblick auf Konstanz der Zusammensetzung und Beständigkeit beim Trocknen eine recht ungeeignete Wägeform.

Die Methode der Pharm. Helvet. V stammt von *R. Eder* und *E. E. Schlumpf*¹⁸⁾. Sie ist etwas umständlicher als die erstgenannte, ähnelt ihr aber doch weitgehend. Die Droge wird bei Zimmertemperatur mit Wasser ausgezogen, der Extrakt mit Bleiessig versetzt und das Filtrat nach Entfernung des überschüssigen Bleiessigs durch Zusatz von Natriumphosphat mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wird über Calciumchlorid

¹⁷⁾ Die in den *Koflerschen* Tabellen (Mikromethoden zur Kennzeichnung organ. Stoffe und Stoffgemische, Berlin 1945) aufgeführten eutektischen Temperaturen mit Phenazetin und Benzanilid sind nach unseren Erfahrungen zur Charakterisierung des Colchicins wenig geeignet.

¹⁸⁾ Dissertation *E. E. Schlumpf*, Zürich, 1927.

getrocknet, eingedampft, der Rückstand mit kleinen Portionen Alkohol übergossen und erneut abgedampft, um das Chloroform restlos zu entfernen. Das chloroformfreie Colchicin wird nach dem Trocknen bei 100° gewogen und anschließend mit sehr verdünnter Salzsäure behandelt, worin geringe Spuren von Verunreinigungen nicht löslich sind, die abfiltriert und gewogen werden. Aus der Differenz beider Wägungen errechnet sich sodann der Colchicingehalt. Dieses Verfahren weist gegenüber dem des DAB 6 keine grundsätzlichen Verbesserungen auf, es hat allerdings den Vorteil der besseren Wäageform des Alkaloids. Demgegenüber ist das Trocknen der Chloroformlösung über Calciumchlorid eine verfehlte Operation. Wir fanden, daß hierbei beträchtliche Colchicinmengen auf dem Trockenmittel fixiert bleiben. Läßt man z. B. eine Chloroformlösung von 23,3 mg Colchicin bei Zimmertemperatur 2 Stdn. über 10 g Calciumchlorid stehen, so sind aus der Lösung nur 13,9 mg (= 60%) Colchicin zurückzugewinnen, und das Trockenmittel ist durch zurückgehaltenes Alkaloid gelblich gefärbt.

Die Methoden der Pharm. Internat. I und der British Pharm. 1953 gehen anscheinend auf Untersuchungen von *P. A. Self* und *H. Corfield*¹⁹⁾ zurück. Die Droge wird mit 95%igem Weingeist im Soxhlet ausgezogen und der alkoholische Rohextrakt durch Abdampfen und fraktionierte Aufnahme in 20%iger Natriumsulfatlösung gereinigt, wobei jede Portion anschließend zweimal mit Äther gewaschen wird. Die vereinigten wäßrigen Lösungen werden nach dem Vertreiben von gelöstem Äther mit Talcum geschüttelt, davon abfiltriert, erneut mit Äther ausgeschüttelt und dieser wieder mehrfach mit Wasser gewaschen. Die vereinigten wäßrigen Auszüge werden sodann schwach alkalisch gemacht und mit Chloroform erschöpft, die Chloroformlösung mit schwacher Lauge gewaschen, filtriert und abdestilliert. Der Rückstand wird zur völligen Entfernung des Chloroforms mit Weingeist übergossen und abermals eingedampft, der sodann hinterbleibende Rückstand zur Wägung gebracht.

Außer diesen Pharmakopoemethoden sind in den letzten Jahren auch optische Verfahren zur Colchicinbestimmung empfohlen worden²⁰⁾, auf die in diesem Zusammenhang nicht näher eingegangen werden soll. Das gleiche gilt auch für sonstige gravimetrische Methoden²¹⁾, soweit sie grundsätzlich nichts Neues bringen.

Wir haben zunächst vergleichenderweise den Colchicingehalt einer Droge (Nr. 1) nach den drei diskutierten Methoden bestimmt und fanden hierbei Werte, die auf den ersten Blick recht gut übereinstimmten (Tab. 2). Auffallend war allerdings das völlig verschiedene Aussehen der zur Wägung gebrachten Rückstände. Der Rückstand der DAB 6-Bestimmung war lackartig, etwas getrübt und ziemlich farblos; er schien der sauberste zu sein. Die beiden anderen waren dunkler, aber nicht einheitlich gefärbt, und gleichfalls nicht kristallin. Mit Hilfe der geschilderten chromatographischen Reinigungsmethode untersuchten wir nun diese verschiedenen Rückstände auf ihren tatsächlichen Gehalt an Colchicin. Wir lösten jeweils in 4 ml Chloroform-Methanol (98 + 2) und gaben diese Lösungen über Säulen von Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“. Es zeigte sich, daß an diesen Säulen erhebliche Mengen Verunreinigungen fixiert blieben. Die nach den Pharmakopoe-Methoden erhaltenen Rückstände waren also keinesfalls sauber oder einheitlich und wir fanden die gleichfalls in Tabelle 2 aufgeführten gravimetrischen und maßanalytischen Werte. Die nach DAB 6²²⁾ und Pharm. Helvet. V zur Wägung kommen-

¹⁹⁾ Quart. J. Pharmac. Pharmacol. 5, 347 (1932).

²⁰⁾ *E. Beuttel*, Süddtsch. Apotheker-Ztg. 80, 453 (1940); *R. Seifert*, Dtsch. Apotheker-Ztg. 58, 77 (1943); *J. S. King jr.*, J. Amer. pharmac. Assoc. sci. Edit. 40, 424 (1951).

²¹⁾ Zusammenstellung und Kritik älterer Methoden bei *G. Bredemann*, Apotheker-Ztg. 18, 817 (1903) sowie *E. E. Schlumpf*, Dissertation, Zürich 1927.

²²⁾ Der Chloroformgehalt des zur Wägung kommenden Rückstandes ist hierbei bereits in Abzug gebracht.

den Rückstände enthielten somit etwa 45% Verunreinigungen; die Methode der Pharm. Internat. I lieferte dagegen relativ reines Colchicin, sie ist also zweifellos die beste.

Tabelle 2

Gravimetrische Wertbestimmung von Semen Colchici nach verschiedenen Pharmacopoen (mit anschließender chromatographischer Reinigung und jodometrischer Titration der gewogenen Rückstände)

Nr.	g	Droge	Methode	mg Rück-	% „Colchi-	% „Col-	mg Rück-	Verbr. ml	mg Colchicin	% Colchicin
				stand	cin · 1/2- CHCl ₃	chicin“	(nach chro- matogr. Reinig.)	m/120- KJO ₃	(jodo- metrisch)	in Droge
I	20,0	DAB 6		39,6	0,49	0,43	21,8	13,0	21,6	0,27
				37,5	0,47	0,41	20,9	12,5	20,8	0,26
	12,0	Ph. Helv. V		36,2		0,45	—	—	—	—
				40,7		—	20,8	12,1	20,2	0,25
	20,0	Ph. Intern. I		74,4		0,47	69,6	38,1	63,4	0,40
				73,2		0,46	68,0	36,3	60,5	0,38
II	20,0	DAB 6		46,5	0,58	0,50	30,2	17,9	29,8	0,37
				41,3	0,52	0,45	27,4	16,4	27,3	0,34
	12,0	Ph. Helv. V		29,7		0,37	—	—	—	—
				31,5		—	23,5	13,0	21,6	0,27
	20,0	Ph. Intern. I		79,4		0,50	76,8	45,4	75,6	0,47
				77,1		0,48	74,5	44,0	73,2	0,45
III	20,0	DAB 6		54,6	0,68	0,59	36,8	21,9	36,4	0,46
				53,1	0,66	0,57	35,0	21,0	34,9	0,44
	12,0	Ph. Helv. V		36,1		0,45	—	—	—	—
				35,6		—	31,1	16,9	28,2	0,35
	20,0	Ph. Intern. I.		104,9		0,65	96,8	57,1	95,0	0,59
				99,2		0,62	92,4	54,6	91,0	0,57
IV	20,0	DAB 6		32,8	0,41	0,36	19,8	11,8	19,7	0,25
				31,7	0,40	0,35	20,3	12,1	20,2	0,25
	12,0	Ph. Helv. V		19,8		0,25	—	—	—	—
				24,9		—	17,3	10,4	17,3	0,22
	20,0	Ph. Intern. I.		60,6		0,38	58,7	31,5	52,5	0,33
				58,3		0,36	56,2	31,8	53,0	0,33

An weiteren Drogenmustern wurden diese Befunde bestätigt. In allen Fällen wurde zunächst der Colchicingehalt nach den verschiedenen Pharmacopoen bestimmt und anschließend die Rückstände chromatographisch gereinigt. Bei den nach Pharm. Helvet. V erhaltenen Rückständen wurde jeweils bei einem Versuch nach dem Wägen vorschriftsgemäß mit verdünnter Salzsäure gelöst und das Nichtgelöste in Abzug gebracht, während beim zweiten Versuch der gewogene Rückstand der chromatographischen Reinigung unterworfen wurde. Tabelle 2 zeigt, wie unterschiedlich bei den einzelnen Drogen der Colchicingehalt ist. Offensichtlich haben auch Menge und Art der Begleitstoffe Einfluß auf Menge und Reinheit der Rückstände, die zwischen 50 und 80% Rein-Colchicin enthalten. Weder die

Methode des DAB 6 noch die der Pharm. Helvet. V können bezüglich Ausbeute und Reinheit des Alkaloids befriedigen. Die nach Pharm. Internat. I erhaltenen Rückstände waren in allen Fällen die saubersten und enthielten 80 bis 98% reines Colchicin; andererseits setzt aber gerade diese Methode eine komplizierte und zeitraubende Reinigung des Rohextraktes voraus, die leicht Verluste an Alkaloid bedingen kann.

Da die Frage der Reinigung des Roh-Colchicins und der maßanalytischen Bestimmung gelöst waren, blieb für die Ausarbeitung einer befriedigenden Gehaltsbestimmung von Samen-Colchici nur noch das Problem der Extraktion des Alkaloids aus der Droge. Zunächst extrahierten wir in Anlehnung an Arbeiten von *T. Reichstein, F. Santavy* u. a.²³⁾ die pulverisierte Droge durch Perkolation mit Methanol. Der gewonnene Auszug wurde auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und nach Ansäuern auf pH 1–2 mit Äther ausgeschüttelt. Sodann wurde mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden zunächst zur Seite gestellt und die wäßrige Phase mit Chloroform erschöpft, die Chloroformlösung mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet²⁴⁾, filtriert und abgedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform-Methanol (98 + 2) gelöst, chromatographisch an Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ gereinigt und anschließend der Colchicinegehalt jodometrisch bestimmt. Die untersuchte Droge I enthielt danach 0,4% Colchicin, ein Ergebnis, das etwa dem der Pharm. Internat. I nach erfolgter chromatographischer Reinigung des Rückstandes entsprach. Von Nachteil war aber auch hier der Zeitaufwand beim Ausschütteln, das noch dazu die Gefahr von Verlusten mit sich brachte, besonders beim Schütteln der ammoniakalischen Lösung, wo leicht Emulsionsbildung eintritt. Von Interesse war auch die Untersuchung der zunächst beiseite gestellten ätherischen Ausschüttelungen, die zeigte, daß der saure Ätherextrakt keine, der basische nur wenig Bestandteile enthielt, die mit Kalium-jodo-wismutat-Lösung eine Fällung geben. Die mit Chloroform erschöpfte, wäßrige Lösung schied dagegen nach Zugabe des Fällungsmittels beträchtliche Mengen Niederschlag ab, was auf die Anwesenheit chloroform-unlöslicher, basischer Stoffe schließen ließ. Letztere dürften auch die Ursache dafür sein, daß bei dem von *H. Mühlemann* und *R. Tobler*⁵⁾ vorgeschlagenen, chromatographischen Verfahren ein Mehrgehalt an Colchicin vorgetäuscht wird. Die Reinigung beschränkt sich hier auf eine einmalige Chromatographie des weingeistigen Drogenauszuges an Aluminiumoxyd „anhydr. puriss. Merck“. Das Filtrat wird mit Wasser versetzt, bis zur Vertreibung des Alkohols eingedampft und nach Vorlage einer bestimmten Menge Salzsäure nach dem *Gordinschen* Verfahren²⁾ titriert. Die basischen Stoffe, die sich mit Chloroform nicht ausschütteln lassen und bei adsorptiver Filtration der weingeistigen Lösung genau wie Colchicin am Aluminiumoxyd nicht fixiert werden, gelangen bei dieser Arbeitsweise mit zur Bestimmung. Bei einer der Methode von *H. Mühlemann* und *R. Tobler*⁵⁾ entsprechenden Versuchsanordnung erhielten wir infolgedessen Überwerte bis zu 100%.

Nach diesen Befunden dürfte ein Ausschütteln der wäßrigen Drogenauszüge mit Chloroform zwecks Trennung des Colchicins von wasser- und weingeistlöslichen, aber chloroform-nichtlöslichen Basen unumgänglich sein. Das bisher durchgeführte Ausschütteln mit Äther war vielleicht dadurch zu umgehen, daß man Fettstoffe möglichst nicht in den Extrakt gelangen ließ. Zu diesem Zweck perkolierten wir die pulverisierte Droge zunächst mit Petroläther und erst dann mit Methanol. Die methanol. Lösung wurde über eine Säule von Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ gegeben und eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Chloroform erschöpft. Der Chloroformextrakt wurde nach dem Trocknen über Natriumsulfat eingedampft, und der hinterbleibende Rückstand nach Lösen in Chloroform-Methanol ein zweites Mal chromatographisch gereinigt; anschließend

²³⁾ Vgl. *F. Santavy* und *J. Bartek*, *Pharmazie* 7, 595 (1952).

²⁴⁾ Hierdurch treten keine Verluste an Colchicin ein, im Gegensatz zum Trocknen mit Kalziumchlorid.

wurde der Colchicingehalt jodometrisch ermittelt. Die erhaltenen Werte lagen aber niedriger als die nach Pharm. Internat. I gefundenen. Dies lag offensichtlich daran, daß trotz der schlechten Löslichkeit des Colchicins in Petroläther dieser das Alkaloid — wahrscheinlich infolge Lösungsvermittlung — aufgenommen hatte. Ein Ausschütteln der Petrolätherauszüge mit Wasser macht aber wegen Emulsionsbildung große Schwierigkeiten²⁵⁾.

In weiteren Versuchen wurde ein Mitlösen von Fettstoffen durch Perkolation mit wasserhaltigem Methanol vermieden. Befriedigende Ergebnisse wurden z. B. mit 50%igem Methanol erhalten, das praktisch kein Fett löste, hingegen bei allen Drogenmustern höchste Ausbeuten an Colchicin gab. Geht man von 6 g Droge aus, so ist bereits in den ersten 20 ml des Perkolats das gesamte Colchicin enthalten. Eine dreistündige Extraktion der Droge im Soxhlet, wie sie Pharm. Internat. I vorschreibt, ist somit überflüssig; auf der anderen Seite ist durch Mazeration mit Wasser anscheinend eine vollkommene Extraktion nicht zu erreichen, wie die Unterwerte lehren, die man nach DAB 6 und Pharm. Helvet. V erhält.

Der durch Perkolation der Droge mit 50 vol.-proz. Methanol erhaltene Auszug wurde anschließend eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und über Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ filtriert. Am oberen Rand der Säule zeigte sich meist ein brauner Ring von adsorbierten Verunreinigungen, die zum Teil beim Nachwaschen wieder eluiert werden. Das abfließende klare Filtrat war meist stark gelb gefärbt²⁶⁾, es wurde auf p_H 1 bis 2 angesäuert und mit Chloroform erschöpft. Der Chloroformauszug wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und abgedampft, der Rückstand in Chloroform-Methanol (98 + 2) aufgenommen und erneut über eine Säule von Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ gegeben. Das Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand zur Entfernung des Chloroforms mit Methanol übergossen und auch dieses verdampft. Der nun hinterbleibende Rückstand kann entweder direkt zur Wägung oder zur jodometrischen Titration gebracht werden. Man erhält auf diese Weise höhere Werte als nach den bisherigen Methoden und der gewonnene Rückstand ist fast reines Colchicin. Dies zeigen auch Analysen von auf diesem Wege aus 2 verschiedenen Drogen gewonnenen Colchicin-jodo-wismutat.

Niederschlag I	Gef.: C 23,09	H 2,44	N 1,23	J 44,64
Niederschlag II	Gef.: » 23,32	» 2,53	» 1,17	» 44,60
$C_{22}H_{26}O_6NBiJ_4 \cdot H_2O$ (1135,1)	Ber.: » 23,26	» 2,46	» 1,23	» 44,72

In Tabelle 3 sind die Werte aufgeführt, die bei 4 Drogenmustern nach dieser Methode erhalten wurden. Nicht nur der Colchicingehalt schwankte erheblich, auch Art und Menge der Verunreinigungen waren bei den Drogen unterschiedlich, wie die zweite chromatographische Reinigung zeigte. Am oberen Rand der Säule blieb eine dunkelbraune 1 bis 2 mm hohe Zone adsorbiert, darunter eine mehr oder weniger intensiv gelb gefärbte von etwa 10 mm Höhe. Droge III enthielt am meisten, Droge IV am wenigsten Verunreinigungen.

²⁵⁾ Auf die Tatsache, daß bei der Entfettung von Samen Colchici mit Petroläther beträchtliche Mengen Colchicin mit dem Fett extrahiert werden, hat in anderem Zusammenhang kürzlich auch J. Büchi, Arch. Pharmaz., 285/57, 152 (1952) hingewiesen.

²⁶⁾ Diese Farbe dürfte durch Begleitstoffe bedingt sein und nicht durch Colchicin, das, wie bereits erwähnt, aus wäßriger Lösung nicht adsorbiert wird und fast ungefärbt die Säule passiert.

Tabelle 3

Jodometrische Wertbestimmung von Semen-Colchici nach neuer Methode

Nr.	Droge g	mg Rückstand	Verbr. ml m/120 KJO ₃	mg Colchicin (jodometrisch)	% Colchicin in Droge
I	5,0	20,9	12,7	21,2	0,42
	6,0	24,9	14,7	24,5	0,41
II	5,0	23,9	14,1	23,5	0,47
	6,0	28,8	17,3	28,8	0,48
III	6,0	36,7	21,9	36,5	0,61
	6,0	35,9	21,4	35,6	0,60
IV	6,0	18,4	11,1	18,5	0,31
	6,0	17,6	10,8	18,0	0,30

Stellt man zusammenfassend die neue Methode den bisher bekannten gegenüber, so ist eine Reihe von Verbesserungen offensichtlich. Man erhält ein weitgehend reines Colchicin; der ermittelte Alkaloidgehalt der Droge dürfte dem tatsächlich vorhandenen entsprechen; der Zeitaufwand einer Bestimmung ist geringer; man kann von kleineren Mengen Droge ausgehen (5 bis 6 g gegenüber bisher 12 bis 20 g).

Selbstverständlich kann das neue Verfahren auch zur Wertbestimmung von galenischen Zubereitungen der Droge dienen wie Tinct. Colchici. Man dampft eine bestimmte Menge Tinktur auf dem Wasserbad ein, nimmt den Rückstand in Wasser auf und verfährt mit dieser Lösung genau wie mit der wäßrigen Lösung des methanolischen Extraktes der Droge. Bei zwei aus dem Handel bezogenen Mustern wurden die in Tabelle 4 aufgeführten Werte gefunden. Sie sind den Werten gegenübergestellt, die mit den Methoden des DAB 6 und der Pharm. Helvet. V gefunden wurde, und für die alle oben diskutierten Fehlermöglichkeiten gelten.

Tabelle 4

Wertbestimmung von Tinctura Colchici nach verschiedenen Methoden

Nr.	Tinktur g	Methode	mg Rück- stand	% „Col- chicin“ • 1/2 HCCl ₃ “	% „Col- chicin“	mg Rück- stand(nach chromato- graph. Reinig.)	Verbr. ml m/120- KJO ₃	mg Colchicin (jodo- metr.)	% Colchicin in Tinktur
I	100,0	DAB 6	43,7	0,068	0,059	32,9	19,4	32,4	0,051
	120,0	Ph. Helv. V	39,2		0,049	—	—	—	—
			43,1		—	31,5	18,7	31,1	0,039
	40,0	Neue jodo- metrische Methode				20,7	12,3	20,5	0,051
II	100,0	DAB 6	51,4	0,080	0,070	32,2	19,2	32,0	0,050
	120,0	Ph. Helv. V	45,7		0,057	—	—	—	—
			49,5			32,7	19,5	32,5	0,041
	40,0	Neue jodo- metrische Methode				20,4	12,1	20,1	0,050

Den Firmen *E. Merck*, Darmstadt, und *M. Woelm*, Eschwege, sind wir für die großzügige Überlassung von Colchicin bzw. Aluminiumoxyden zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Dr. O. Winkler und Herrn Dipl.-Chem. G. Wohleben danken wir für Nachprüfung der neuen Methode und Verbesserungsvorschläge

Reinigung von Colchicin

7 g Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ werden in ein am unteren Ende verjüngtes und mit etwas Watte verschlossenes Glasrohr von 10 mm Durchmesser trocken eingefüllt und durch Klopfen eine möglichst dichte Schüttung des Adsorptionsmittels bewirkt. Die Säule wird oben ebenfalls mit etwas Watte bedeckt und sodann mit 5 bis 7 ml Chloroform-Methanol-Gemisch (98 + 2 Vol. T.) angefeuchtet. Anschließend wird eine Lösung von 2 g Colchicin DAB 6 in 15 ml des genannten Lösungsmittelgemisches aufgegossen. Schon bald ist die Ausbildung einer gelb gefärbten Zone auf der Säule zu beobachten, die nach unten wandert, während am oberen Rand meist eine ebenfalls gelbe sowie eine dunkler gefärbte Zone fixiert bleiben. Nachdem die Colchicinlösung aufgegossen ist, wird mit 25 ml Chloroform-Methanol-Gemisch nachgewaschen, die Colchicin quantitativ eluieren. Das Filtrat wird im Wasserbad von 50° unter schwachem Saugen vollständig vom Lösungsmittel befreit, wobei ein sirupöser Rückstand hinterbleibt, der meistens bald durchkristallisiert. Nach Zusatz von 5 ml abs. Äther wird am Rückflußkühler in der eben erforderlichen Menge gereinigten Essigesters gelöst, warm filtriert, 3 ml Äther zugefügt und im Kühlschrank stehengelassen. Die ausgeschiedenen Kristalle werden abgesaugt und ein zweites Mal in derselben Weise umkristallisiert. Die erhaltenen farblosen Kristalle zeigen den Schmp. 153 bis 155° und sind weitgehend reines Colchicin.

Präparat I	Gef.: C 66,38	H 6,62	N 3,89
Präparat II	Gef.: » 65,88	» 6,61	» 3,50
C ₂₂ H ₂₅ O ₆ N (399,4)	Ber.: » 66,13	» 6,31	» 3,51

Analysenvorschriften

Reagenzien und Lösungen

1. Wismutlösung: 21 g Wismutsubnitrat DAB 6 werden in 145 ml 25%iger Salpetersäure gelöst und mit Wasser auf 300 ml aufgefüllt. Die Lösung ist haltbar.
2. Fällungsreagenz: Man läßt 20 ml der unter 1. beschriebenen Wismutlösung in eine Lösung von 10 g Kaliumjodid in 80 ml Wasser laufen. Die Lösung ist nur beschränkt haltbar (etwa 24 Stdn.), soll daher jeweils frisch bereitet werden.
3. Waschflüssigkeit: Etwa 0,01 n-Schwefelsäure (3 Tropfen verd. 16%ig. Schwefelsäure auf 50 ml Wasser); in Eis-Kochsalz-Mischung gekühlt.
4. Kaliumcyanid-Stärke-Lösung: 3,26 g Kaliumcyanid bzw. 2,45 g Natriumcyanid reinst werden in 100 ml 1%iger Stärkelösung gelöst. Die Lösung hält sich einige Wochen.
5. m/120-KJO₃-Lösung: 1,7835 g Kaliumjodat zur Analyse werden bei 150° getrocknet und zu 1000 ml aufgelöst. Der Gehalt kann jodometrisch nachgeprüft werden.
6. Chloroform-Methanol: Chloroform wird zur Reinigung dreimal mit Wasser ausgeschüttelt und sodann 24 Stdn. über Calciumchlorid getrocknet. Anschließend mischt man 98 Vol.T. des gereinigten Chloroforms mit 2 Vol.T. Methanol.
7. Methanol-Wasser: Man mischt 1 Vol.T. Methanol mit 1 Vol.T. Wasser.
8. 12,5%ige Salzsäure = verdünnte Salzsäure DAB 6.
9. 16%ige Schwefelsäure = verdünnte Schwefelsäure DAB 6.

Maßanalytische Bestimmung von Colchicin

4,0 g Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ werden in ein am unteren Ende verjüngtes und mit etwas Watte verschlossenes Glasrohr von 10 mm Durchmesser trocken eingefüllt. Durch Klopfen sorgt man für gleichmäßige Schüttung und bedeckt sodann die Oberfläche gleichfalls mit etwas Watte. Man gibt so lange Chloroform-Methanol auf, bis dieses unten abzutropfen beginnt, sodann eine Lösung von 10 bis 20 mg Colchicin (genau gewogen) in 4 ml Chloroform-Methanol. Man spült das zur Herstellung der Colchicinlösung benutzte Kölbchen mit drei Portionen von je 3 bis 4 ml Chloroform-Methanol nach und gibt diese Lösungen gleichfalls auf die Säule in der Weise, daß die folgenden Anteile

erst dann aufgegossen werden, wenn sich der Flüssigkeitsspiegel bis zum oberen Rand der Aluminiumoxyd-Säule gesenkt hat.

Das in einem 100-ml-Kölbchen aufgefangene Filtrat wird auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit 2 ml Methanol übergossen und erneut eingedampft. Dann nimmt man in 30 ml Wasser auf²⁷⁾ und läßt nach Zugabe von 3 Tropfen 16%iger Schwefelsäure unter dauerndem Umschwenken tropfenweise aus einer Bürette oder einem Tropftrichter 10 ml Fällungsreagenz zulaufen. Nach einstündigem Stehenlassen wird der Niederschlag durch eine Glasfilternutsche 11 G 4, deren Fritte einen Durchmesser von 40 mm hat, abgesaugt²⁸⁾. Mit etwas Filtrat bringt man auch die letzten Reste des Niederschlages auf die Fritte und entfernt an Nutschenwand und Niederschlag haftendes Fällungsmittel durch Abspritzen mit Waschflüssigkeit²⁹⁾. Hierzu spritzt man mittels einer Augentropfpipette mit Gummihaut unter gleichzeitigem Saugen 10- bis 12mal je 0,5 ml in Eis-Kochsalz-Mischung gekühlte Waschflüssigkeit auf die Innenwand der Nutsche und den Niederschlag, bis der ablaufende Schaum farblos ist³⁰⁾. Anschließend werden der Auslauf der Glasfilternutsche und die Saugflasche mit Wasser ausgespült, um evtl. anhaftende Tropfen des Fällungsreagenzes zu entfernen. Sodann übergießt man den Niederschlag auf der Fritte mit 10 ml 12,5%iger Salzsäure und rührt ohne zu saugen den Niederschlag durch Reiben mit einem Glasstab auf. Nach wenigen Minuten hat sich der größte Teil des Niederschlages gelöst und man saugt ab. Diese Operation wird noch einmal mit 10 ml und ein drittes Mal mit 5 ml 12,5%iger Salzsäure wiederholt, so daß der Niederschlag vollständig gelöst ist³¹⁾. Schließlich wäscht man die Nutsche mit 15 ml Wasser nach.

Zur Titration verbleibt die Lösung in der Saugflasche. Man fügt 5 ml Kaliumcyanid-Stärke-Lösung hinzu³²⁾ und titriert — nicht zu schnell und unter Umschwenken — mit m/120-Kaliumjodat-Lösung, bis die Lösung, die nach Zugabe der ersten Tropfen Jodat-Lösung blauschwarz wird, wieder rein gelb erscheint. Die autitrierte Lösung darf innerhalb von einer Minute nicht dunkler werden anderenfalls man noch Kaliumjodat-Lösung zufügen muß.

Bestimmung von Colchicin in Colchicin-Tabletten

Tabletten die einer Menge von 10 bis 15 mg Colchicin entsprechen, werden pulverisiert und in einem Kölbchen mit 15 ml Methanol übergossen, das zunächst zum Ausspülen des Mörsers gedient hat. Man erwärmt einige Minuten auf dem Wasserbad und filtriert durch etwas Watte. Der nicht gelöste Rückstand wird erneut mit 10 ml sowie ein drittes Mal mit 5 ml Methanol in der gleichen Weise behandelt, wobei jeweils über die zuerst gebrauchte Watte filtriert wird. Die vereinigten methanolischen Auszüge werden zur Trockne eingedampft und der hinterbleibende Rückstand unter leichtem Erwärmen mit 4 ml Chloroform-Methanol digeriert. Nach dem Erkalten gibt man diese Lösung wie oben beschrieben

²⁷⁾ Bei der Wertbestimmung von Samen Colchici ist die Lösung gelegentlich opaleszierend getrübt, wodurch aber keine Störung der Bestimmung bedingt wird.

²⁸⁾ Vor Glasfiltertiegel mit Sinterplatten kleineren Durchmessers hat eine derartige Nutsche den Vorteil, daß sich der Niederschlag auf einer größeren Fläche verteilt; das Abspritzen wird damit erleichtert, außerdem ist bei einer Nutsche auch der Waschvorgang besser zu beobachten.

²⁹⁾ Es ist unzweckmäßig, in der üblichen Weise durch Übergießen mit Waschflüssigkeit zu waschen, weil hierbei Teile des Niederschlages gelöst werden.

³⁰⁾ Eine beim Zufließen der Waschflüssigkeit in die Saugflasche auftretende Trübung ist ohne Belang.

³¹⁾ Bei der Wertbestimmung von Samen Colchici hinterbleibt gelegentlich ein bräunlicher Beschlag auf der Fritte. Dies hat keinen Einfluß auf die Bestimmung. Durch Spülen mit Azeton kann die Fritte gereinigt werden.

³²⁾ Hierbei soll sich die gelbgrüne Lösung nicht verändern. Sollte sie sich infolge durch Luftsauerstoff aus verschiedenen Jods dunkelgrün bis blau färben, so fügt man tropfenweise n/20-Natriumthiosulfatlösung hinzu, bis die ursprüngliche gelbe Farbe wieder erscheint. Ein Überschuß von Thiosulfat muß selbstverständlich vermieden werden, weil sonst ein zu großer Verbrauch an Kaliumjodatlösung die Folge wäre.

auf eine Säule von 4 g Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ und digeriert den Rückstand in gleicher Weise mit weiteren 3 ml Chloroform-Methanol; nach dem Erkalten wird auch diese Lösung auf die Säule gegeben, sowie anschließend 7 ml Chloroform-Methanol. Das erhaltene Filtrat wird auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit 2 ml Methanol übergossen und erneut eingedampft. Dann wird in 30 ml Wasser aufgenommen und der Gehalt an Colchicin wie oben beschrieben jodometrisch bestimmt.

Wertbestimmung von Samen Colchici

Zu 6,0 g grob gepulverter Droge (Sieb 4) werden in einer Reibschale tropfenweise dreimal je 1 ml Methanol-Wasser gegeben und jedesmal durch sorgfältiges Verreiben für gleichmäßige Durchfeuchtung gesorgt. Die angefeuchtete Droge wird sodann in ein mit Hahn versehenes Glasrohr von etwa 20 mm Durchmesser, das unten mit einem Wattebausch verschlossen ist, gefüllt. Die Oberfläche der Säule bedeckt man ebenfalls mit etwas Watte. Man spült Reibschale und Pistill zweimal mit je 10 ml Methanol-Wasser nach, die anschließend auf die Drogensäule gegeben werden, und gibt, nachdem die Flüssigkeit fast ganz in die Droge eingezogen ist, noch einmal 20 ml Methanol-Wasser auf. Der Abfluß wird so reguliert, daß in der Minute 20 bis 30 Tropfen austreten. Das Perkolat wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, und der Rückstand unter leichtem Erwärmen auf dem Wasserbad in 10 ml Wasser aufgenommen. Man bereitet sodann die Säule zur ersten adsorptiven Filtration vor, indem man ein am unteren Ende verjüngtes Glasrohr von 20 mm Durchmesser mit etwas Watte verschließt, sodann 7 g Aluminiumoxyd „Woelm alkalifrei“ trocken einfüllt, durch Klopfen für gleichmäßige Schüttung sorgt und mit etwas Watte bedeckt. Auf diese Säule wird zunächst so viel Wasser gegeben, bis dieses unten abzutropfen beginnt und sodann die auf Zimmertemperatur abgekühlte, trübe Lösung des Perkulations-Rückstandes in Wasser. Wenn letztere fast ganz eingezogen ist, gießt man 5 ml Wasser, mit denen man zuerst die Schale nachgespült hat, auf die Säule. Wenn auch diese fast eingezogen sind, wäscht man die Säule mit weiteren 10 ml Wasser. Das Filtrat verdünnt man mit etwa 100 ml Wasser und schüttelt nach dem Ansäuern mit 5 Tr. 16%iger Schwefelsäure nacheinander mit 25, 15 und 10 ml Chloroform aus. Die vereinigten Chloroformauszüge trocknet man über wasserfreiem Natriumsulfat bis zum vollständigen Klarwerden, filtriert ab, wäscht Kölbchen und Filter zweimal mit je 10 ml Chloroform und dampft zur Trockne. Der Rückstand wird in 4 ml Chloroform-Methanol aufgenommen und diese Lösung, wie bei der maßanalytischen Bestimmung des Colchicins beschrieben, weiterbehandelt.

Wertbestimmung von Tinctura Colchici

40,0 g Tinct. Colchici werden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand in 10 ml Wasser gelöst und, wie bei der Wertbestimmung von Samen Colchici beschrieben, weiterbehandelt.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 29. 12. 1924 in Köln als Sohn der Eheleute Apotheker Paul Bolder und Frau Helene, geb. Wiedel, geboren.

Ich besuchte vier Klassen der Volksschule, fünf Klassen der städt. Oberschule Köln-Nippes und zwei Klassen der staatl. Oberschule Köln-Ehrenfeld. Nach Versetzung in die 8. Klasse erhielt ich im Sommer 1942 meine Einberufung zum Reichsarbeitsdienst und schließlich zum Wehrdienst, auf Grund deren mir mit dem Datum vom 4. 3. 1943 die Reife zuerkannt wurde.

Nach dem Kriege absolvierte ich von 1945 — 1947 in der Stadtwald-apotheke, Köln-Braunsfeld, meine Apothekerpraktikantenzeit, und im Winter-Semester 1948/49 begann ich in Marburg das Pharmaziestudium. Zur Anerkennung meines Reifevermerks unterzog ich mich im W.S. 49/50 einer Ergänzungsprüfung, und am 12. Oktober 1951 bestand ich das pharmazeutische Staatsexamen mit dem Prädikat „gut“. Die Approbation erhielt ich am 11. 1. 1952.

Im Anschluß an das pharmazeutische Staatsexamen begann ich unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Böhme mit der Untersuchung über eine neue Wertbestimmung von Colchicin, deren Ergebnis in vorliegender Dissertation zusammengefaßt ist.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren:

Albrecht, Asmus, Böhme, Bogen, Büsing, Claussen, Heim, Kiese, Kirsch, Laum, Leonhard, Mahr, Meerwein, Pirson, Schulz-Schäffer, Walcher.

